

## Válasz Prof. Dr. Gyires Klára egyetemi tanár MTA Doktori Értekezésemre adott opponensi véleményére

Mindenekelőtt szeretném hálás köszönetemet kifejezni Gyires Klára professzor asszonynak, hogy elvállalta értekezésem bírálatát, részletes és alapos értékelésével és kérdéseivel hozzásegített az eddigi munkám átgondolásához és továbbviteléhez. Hálásan köszönöm valamennyi megjegyzését és kérdését, melyekre az alábbiakban szeretnék reagálni, illetve válaszolni.

### Megjegyzések

- 1. A Bevezetésben az adrenerg receptorokról, különösen az alfa1 és alfa2 szubtipusokról célszerű lett volna egy rövid áttekintést adni.*

A Bevezetésben a jelenleg alkalmazható vagy klinikai megfontolás tárgyát képező tokolitikus szerekről írtam, amibe az  $\alpha$ -altípuson ható szerek sajnos jelenleg nem tartoznak bele, így az általam követett logika alapján nem készült egy ilyen jellegű áttekintés ebben a fejezetben. Habár az Eredmények és a Megbeszélés fejezetek ide vonatkozó részeiben fellelhetők információk az  $\alpha$ -adrenerg receptor altípusokról, el kell ismernem, hogy ezt jó lett volna átfogóan leírni egy alfejezetben. Ennek elmaradásáért elnézést kérek.

- 2. Gesztagén vegyület és béta2 receptor izgatók együttes adása rutinszerű volt fenyegető koraszülés kezelésében a hetvenes években. Célszerű fokozottan hangsúlyozni, hogy a kísérletek alapján a beta-2 agonista dózisa jelentősen csökkenthető. Ez nem csak a mellékhatások csökkenését eredményezheti, de késleltetheti a béta2 receptorszám down regulációját is. Azonban kérdéses a gesztagének esetleges magzati hatása, ill. melyik gesztagén alkalmazása lenne optimális.*

Habár számos gesztagén hatóanyag áll rendelkezésre, tokolízis szempontjából két vegyülettel vannak klinikai tapasztalatok: a progeszteronnal és a  $17\alpha$ -OH-progeszteron-kaproáttal. A progeszteront leggyakrabban per os vagy vaginálisan, míg a  $17\alpha$ -OH-progeszteron-kaproátot intramuszkulárisan adják, de legtöbbször megelőzésre vagy már a leállított korai fájástevékenység utáni állapot fenntartására [1]. A progeszteron kezelés kapcsán nem írtak le számottevő anyai és magzati mellékhatásokat, sőt a születés után 2 évvel sem mutattak ki komplikációkat a progeszteron tokolízis után született gyerekeknél [2]. A progeszteron csökkenti a neonatális halálozást és a magzatban neuroprotektív hatással is bír [3,4]. A  $17\alpha$ -OH-progeszteron-kaproát alkalmazása terhesség alatt biztonságosnak tűnik, klinikai vizsgálatok alapján a heti 200 mg-os adag nem okoz sem magzati, sem pedig anyai mellékhatásokat [5]. Más gesztagének terhesség alatti alkalmazásáról nagyon limitált klinikai adatok állnak rendelkezésre, pl. a közöttük előforduló antiandrogén hatás (ciproteron-acetát) komolyabb magzati ártalmat is okozhat korai terhességben [6].

3. *Bevezetésben a koraszülés számos rizikó faktora közt nincs megemlítve a korábbi művi abortuszok okozta kockázat.*

A 2000-es évek elején jelentek meg tanulmányok ezzel kapcsolatban, amiben azt találták, hogy a művi abortusz az idiopátiás koraszülés, a korai membránruptúra és szülés előtti vérzés kapcsán növelték a kockázatot, de nem volt hatással az anyai hipertóniához kapcsolódó koraszülési kockázatra [7,8]. Ezek említése szintén fontos a koraszülés okai között, különösen hazánkban, így köszönöm ezt a fontos kiegészítést.

4. *Az alfa-1A, -1B, -1D valamin alfa-2A, -2B és -2C adrenoceptor szubtípus, nem altípus.*

Véleményem szerint itt receptor altípusok altípusairól van szó, amire az angolszász szakirodalomban nincs külön kifejezés, csak a „subtype” megjelölés, amit magyarra altípusnak fordítanak. Az is igaz, hogy sokszor az  $\alpha_1$ - és  $\alpha_2$ -adrenerg receptorokat már nem említik az  $\alpha$ -receptorok altípusaiként, hanem mint az adrenerg receptorok csoportjait [9]. Az újabb angol nyelvű szakirodalomban pl. az  $\alpha_1$ -és az  $\alpha_{1A}$ -adrenerg receptok is „subtype” megnevezést kaphatnak [10,11]. A magyar szakmai szóhasználatban nem igazán terjedt el az altípus és a szubtípus közti különbségtétel, de lehetséges, hogy erre nagyobb hangsúlyt kellene fektetni.

5. *Az adrenerg kombinációk vizsgálatára irányuló eredményeket bemutató ábrák egy részénél hiányzik a kombinációkban vizsgált vegyületek egyikének önmagában kifejtett hatása. Lehetséges, hogy egy másik ábrán ez demonstrálva van, de erre vagy utalni kellett volna, vagy az adott ábrán is feltüntetni.*

Elismerem, hogy valamennyi felsorolt esetben a hiányolt görbék és oszlopok farmakológiailag tökéletes ábrázolása miatt szükségesek lettek volna, éppen ezért elnézést kérek ezek elmaradásáért. Egyedül a  $17\alpha$ -OH-progeszteron-kaproát esetében nem tudtam volna ez megtenni, mivel csak a kombinációs hatását vizsgáltuk, hiszen a progeszteron hatástalannak bizonyult önmagában, ráadásul a bétamimetikus relaxáló hatást potenciózó effektusa is kisebb volt, mint a progeszteron esetén. Ezek alapján nem tartottuk szükségesnek önálló hatásának részletes vizsgálatát.

## **Kérdések**

1. *A Bevezetésben a koraszülés akut fázisában alkalmazott vegyületek valamennyien tocolytikus hatásúak. Ismeretes-e, hogyan hatnak a cervikális rezisztenciára?*

Az említett tokolitikumok cervix rezisztenciára gyakorolt kevés humán adat áll rendelkezésre, aminek valószínűleg az az oka, hogy a koraszülés veszélyekor megkezdett tokolitikus gyógyszeres terápia elsősorban a kontrakciók leállítására fókuszál és a cervix érés esetleges lassulására kevesebb figyelem jut, legalábbis a tudományos igényű dokumentálás szempontjából. A  $\beta_2$ -adrenerg agonisták esetén csak az általunk közölt, patkányban mért cervix rezisztencia fokozó hatás ismert [12]. A magnézium-szulfát cervixre gyakorolt hatásáról nincs

megbízható preklinikai vagy klinikai adat. A COX-gátlók esetén patkányban 5, illetve 8 napos kezelést követően nimeszuliddal sikerül fokozni a cervix rezisztenciát és megnyújtani a vemhességi időt [13,14]. Saját izolált szervi méréseinkben a diklofenák és a rofecoxib egyszeri dózisa cervix rezisztencia csökkentő hatás fejttettek ki 22 napos vemhes patkányok szövetein, ugyanakkor önmagukban, a 21. napon adott egyszeri dózisban nem befolyásolták az ellés idejét [15]. Humán adatok e tekintetben megint csak nem állnak rendelkezésre. A kalcium csatorna blokkolók esetén progeszteronnal történt összehasonlító klinikai vizsgálatot végeztek és azt találták, hogy nifedipin koraszülést csökkentő hatása lényegesen elmaradt a progeszteron mellett rövid cervixhossz esetén [16]. A NO fokozza a mátrix metalloproteinázok aktivitását a cervixben és elősegíti az érési folyamatot [17]. A nitrodilatátorokkal eddig elvégzett állatkísérletes cervix vizsgálatok azonban azt mutatják, hogy önmagukban nincs hatásuk a cervix érésére [14]. Egy 2021-es humán vizsgálatban alkalmazott transzdermális nitroglicerinnel kapcsán azt tapasztalták, hogy jobb hatékonyságú és kevesebb mellékhatással rendelkező tokolitikum, mint a per os alkalmazott nifedipin, különösen azokban az esetekben, ahol a cervix tágulása meghaladta a 3 cm-t [18]. Ezek alapján sem valószínű, hogy tovább rontanák a cervix rezisztenciát. Az oxitocin antagonisták kismértékben fokozhatják a cervix rövidülését a tokolitikus terápia során [19], ugyanakkor egy másik, multicentrikus, placebo kontrollos humán vizsgálatban azt találták, hogy nem volt hatással a cervix dilatációra [20].

- 2. A béta2 adrenoceptor agonisták hatásnak vizsgálatát miért csak a cervixen tervezték, miért nem volt cél az uterus kontrakciókra gyakorolt hatás vizsgálata ebben a fejezetben már csak didaktikus okok miatt is. A későbbiekben számos kísérlet demonstrálja a béta2-AR agonista vegyület (terbutalin) tocolytikus hatását, csak az olvasóban van hiányérzet a fent említett okok miatt.*

Természetesen a terbutalin önálló uterus relaxáló hatását korábban alaposan megvizsgáltuk modellünkben, illetve leírtuk azt is, hogy a patkányban a vemhesség előrehaladtával a miometrium terbutalin érzékenysége spontán csökkent, illetve feltártuk ennek a G-protein kapcsoltsággal való összefüggését is [21]. Ezek az eredmények már részét képezték a PhD disszertációnak, és mivel az akadémiai doktori értekezés egyik kritériuma, hogy a PhD disszertáció anyagával nem lehet átfedésben, így ezt nem mutathattam be az értekezésben. Ugyanakkor a szélesebb megértést segítő valóban jobb lett volna legalább egy rövid összefoglalást a Bevezetés vagy a Megbeszélés fejezetekben ezzel kapcsolatosan közölni.

- 3. In vitro a patkány uterus kontrakciókat különböző módon váltották ki, elektromos field stimulációval, noradrenallal, oxytocinnal, KCl-al, vagy PGF2 $\alpha$ -al? Milyen megfontolás alapján választották egyik vagy másik módszert?*

Az elektromos erőter ingerléses kísérleteket az altípus szelektív  $\alpha_1$ -adrenerg receptor antagonisták vizsgálatánál alkalmaztuk abból a megfontolásból, hogy az általunk korábban meghatározott, e direkt simaizom ingerlést kiváltó metodikához kötődő kontraktilitási hányados alkalmazásával teszteljük ezeket a vegyületeket, mivel a kontraktilitási készség és az  $\alpha_1$ -receptorok között összefüggést találtunk [22]. Az altípus szelektív  $\alpha_2$ -adrenerg receptor antagonisták vizsgálatánál nem volt birtokunkban ilyen előzetes mérési adat, ezért a

noradrenalin mellett, döntöttünk, melynek segítségével a klasszikus agonista-antagonista kölcsönhatásban tudtuk vizsgálni ezen antagonisták uterusz hatását. Az oxitocin indukált kontrakciókat humán terminusból vagy koraszülésből származó minták esetén alkalmaztuk abból kiindulva, hogy ezen szöveteknek az oxitocin érzékenysége ilyenkor a legnagyobb [23]. és ez modellezi legjobban a humán folyamatokat. Emellett az állatkísérletekben a nociceptin és nocistatin, valamint az elhízásos kísérletekben a kisspeptin, leptin és adiponectin vizsgálata esetén alkalmaztunk oxitocin stimulált kontrakciókat abból a megfontolásból, hogy érdekes lehet a peptid természetű kontraktilis ágens hatásának gátlása peptid természetű, potenciális uterorelaxáns anyagokkal. Mivel ezekben az esetekben a vemhességi napok közül csak a 22. napot vizsgáltuk, így nem okozott problémát, hogy vemhesség előrehaladtával az uterusz oxitocin érzékenysége változik [23]. Többféle vemhességi nap vizsgálata esetén azonban nem szerencsés az oxitocinnal szembeni válaszokat mérni, mert a kontroll értékek mások lesznek. Nagyon sok vizsgálatban alkalmaztunk 25 mM KCl-indukálta kontrakciókat, mivel egyrészt ez a koncentráció ritmikus, hosszantartó és stabil kontrakciót eredményez, valamint kevésbé kimerítő a szövet számára az elektromos erőter ingerlés által direkt simaizom ingerléshez képest, ezenfelül pedig lényegesen könnyebben kivitelezhető (az EFS ingerlés esetén csak nem kumulatív módon tudunk mérni, míg KCl esetén a kumulatív adagolás kivitelezhető, ami lerövidíti a kísérlet időtartamát és csökkenti a szöveti kifáradás valószínűségét). Mindkét esetben a kalcium csatornák megnyitásán keresztül történik a simaizomzat depolarizációja [22,24]. A  $PGF_{2\alpha}$  indukálta kontrakciókat az elhízásos modellben alkalmaztuk abból a megfontolásból, hogy a magas zsír és cukortartalmú (HFHSD) diéta okozta elhízás módosíthatja a keletkező prosztaglandinok arányát [25] és ezért fontos volt a PG útvonalon végbemenő kontrakciók mérése is.

4. *20. ábra, a panel: Az ábraszöveg szerint az NA indukált cAMP csökkenés megszűnik ARC239 jelenlétében, Az ábra szerint mind a NA mind az ARC239 szignifikánsan csökkentette cervix rezisztenciát.*

Az érintett ábraszöveg azt állítja, hogy „A 18. (a) és 21. (e) napon tapasztalható NA indukált cAMP csökkenés megszűnik ARC239 vagy spiroxatrine jelenlétében”. Sajnálatos módon ez a mondat rosszul lett megfogalmazva, mivel a NA indukált cAMP csökkenés a 18. napon a spiroxatrine, a 21. napon pedig az ARC239 jelenlétében szűnik meg. A két anyag hatásleírását egybemostam, ami félrevezető és ezért elnézést kérek.

5. *Az oxitocinnal kiváltott kontrakciókat a nocistatin nem gátolta, a KCl által kiváltott kontrakciókat azonban igen. Hogyan magyarázható?*

Egyértelmű választ nem tudok adni a kérdésre, mivel a nocistatin oxitocinnal szembeni hatástalansága miatt a patkánykísérletekben nem vizsgáltuk tovább ennek az okát. Ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy a részben CGRP agonista adrenomedullin sem hat az oxitocin indukálta kontrakciókkal szemben [26]. Ez egybevág a mi eredményeinkkel, hiszen igazoltuk, hogy a nocistatin uterusz relaxáló hatása CGRP felszabaduláson keresztül valósul meg. Az, hogy CGRP miért nem gátolja az oxitocin kontrakciót fokozó hatását, további vizsgálatokat

igényel, jelenleg nem állnak rendelkezésre olyan bizonyítékok, melyek alapján ez a jelenség magyarázható lenne.

6. 50. ábra: *A naloxone, tetraetilammónium és paxilline önmagukban hogyan befolyásolták az oxitocin kiváltotta uterus kontrakciókat? Az ábra csak a nociceptinnel való kombinatív hatásukat mutatja. Az 50. ábra: b panel nociceptin+naloxone kombináció hatását mutatja be, ahol a nociceptin önmagába kifejtett uterus relaxáló hatása nincs feltüntetve. Az a panelen feltüntetett nociceptin hatás vonatkozik-e a b panelre is?*

Az „a” panelen feltüntetett nociceptin koncentráció-hatás görbe az ábrán látható valamennyi görbe kontroll görbéje. Ahogyan az ábrához tartozó táblázatban is látszik, a szignifikancia számítások ennek a görbének az adataival összehasonlításban történtek. A naloxon, tetraetilammónium és a paxilline az alkalmazott koncentrációikban nem befolyásolták szignifikánsan az oxitocin hatását. Ezt az információt valóban jó lett volna közölni az eredmények tárgyalásakor, elnézést kérek, hogy ez elmaradt.

7. *Az elhízás rizikó faktor a koraszülésre (ld. Bevezetés). Ugyanakkor a jelen eredmények szerint csökken az uterus spontán motilitása HFHSD esetén (76. ábra) Összefüggene-e a fokozott kockázat a HFHSD cervix rezisztenciát csökkentő hatásával a (79. ábra)?*

A szakirodalomban valóban vannak bizonyíték arra, hogy az elhízás az uterusz kontrakciók erősödéséhez és koraszüléshez vezethet [27–29], de ugyanakkor arra is vannak bizonyíték, hogy túlhordást is okozhat az uterusz kontraktilitás és a cervix érés lassulásával [30]. A klinikai tapasztalat, illetve a saját állatkísérletes eredményeink alapján csak azt lehet kijelenteni, hogy az elhízás hatással van a terhesség időtartamára, de ennek eredménye lehet hosszabb vagy rövidebb gesztációs idő, attól függően, hogy az adott esetben a szülést vagy a szülést késleltető folyamatok dominálnak, amiben szerepe lehet a rassznak, az etnikumnak is és az anya életkorának is (pl 20 év alatti nem spanyolajkú fehér nőknél az elhízás túlhordást eredményez, míg 20 év felett koraszülést, illetve pl. az afroamerikaiknál fokozza a koraszülés kockázatát) [29]. Ha koraszülés következik be, akkor abban természetesen szerepet játszhat az obezitás okozta felgyorsult cervix érés is.

8. 5.4.4. *Fejezet: Fertőzés, gyulladás, gyulladáskeltő citokinek plazmaszint emelkedése kockázati tényezők a koraszülésre (ld. Bevezetés). A bemutatott kísérleti eredmények szerint azonban a lipopoliszaharid-indukálta gyulladás, melyet a TNF-alfa emelkedett szintje is jelez, balra tolta terbutalin hatás görbét (82. ábra), azaz fokozta az uterus relaxációt, valamint emelte a P4 szintet (80. ábra), ami szintén az uterus relaxációját segíti.*

A 82. ábrán bemutatott terbutalin koncentráció-hatás görbékből csak arra tudunk következtetni, hogy az LPS által kiváltott gyulladással fokozza a vemhes uterusz terbutalin érzékenységét, azaz kisebb koncentrációban képes a vegyület gátolni a kontrakciókat. De ez

önmagában nem jelenti azt, hogy az LPS-sel kiváltott intrauterin gyulladás uterusz relaxációhoz vezet (sőt, az értekezésben nem közölt alap kontraktilitási adatok alapján növeli a kontrakciókat [31]). A TNF $\alpha$  magas szintje, ami egyben jelzi a gyulladásos folyamat intenzitását, megnöveli az uterusz szövet  $\beta_2$ -agonista érzékenységét, ami a TNF $\alpha$  gátló thalidomid jelenlétében visszaáll a kontroll szintre. A 80. ábrán látható eredmények a vemhes elhízásos kísérletből származó adatok, melynél a hipotézis az volt, hogy az elhízás okozta alacsony intenzitású gyulladás fokozni fogja az uterusz kontrakciókat. Ezzel szemben azt kaptuk, hogy a gyulladáskeltő citokinek szintje (keratinocita eredetű citokin, TNF $\alpha$ ) szintje csökkent. Az értekezésbe nem került bele, de megmértük zsírszövetekben is a gyulladáskeltő citokinek (IL-1 $\beta$ , IL-6 és TNF $\alpha$ ) mennyiségét és ott is csökkenést találtunk [32]. Ebből adódóan az elhízásos vizsgálat összességében és meglepő módon inkább gyulladáscsökkentő eredménnyel zárult, ennek megfelelően nőtt a progeszteron szint és csökkent a kontraktilitás. Ugyanakkor a 80. és 82. ábra eredményei nem igazán összevethetők, mivel az egyik esetben egy intenzív gyulladásos folyamat játszódott le, a másik esetben pedig az elhízással egy kis intenzitású gyulladásos folyamatot kívántunk kiváltani.

*9. Vizsgálták-e, hogy a LPS kezelés önmagában, terbutaline nélkül hogyan befolyásolja a field-stimuláció okozta méhkontrakciókat?*

Mivel a vizsgálat minden esetben önkontrollos volt, így minden egyes szövet esetén a terbutalin nélküli, EFS-indukált kontrakciók voltak a kontroll értékek. Megállapítható, hogy az LPS kezelés növelte a méhszövet ingerelhetőségét [31]. Logikusan ebből az következne, hogy a terbutalin hatásának csökken kellene, de mivel a TNF $\alpha$  fokozza a cAMP termelődést G<sub>s</sub>-protein aktiváció esetén [33], így ez végül a terbutalin hatékonyságát növelte.

*10. Mi az oka, hogy a HFHSD hatását a PGF<sub>2</sub>alfa indukált méh kontrakciókra vizsgálták, míg a LPS méhkontrakciókra gyakorolt hatás elemzésére a kontrakciókat EFS-val váltották ki?*

Ahogy azt a 3. kérdésre adott válaszan leírtam, a PGF<sub>2</sub> $\alpha$  indukálta kontrakciókat az elhízásos modellben azért alkalmaztuk, mert az elhízás módosíthatja a keletkező prosztaglandinok arányát [25], és ezért volt fontos a PG útvonalon végbemenő kontrakciók mérése is. Ugyanakkor teljesen logikus a kérdés, hogy a LPS adásával indukált gyulladásos modellben miért nem vizsgáltuk a PGF<sub>2</sub> $\alpha$  kiváltotta kontrakciókat. Ennek egyik oka az, hogy a két mérés között közel másfél évtized telt el, és 2008-ban még elsősorban az EFS ingerléssel dolgoztunk és csak utána kezdtük el másfajta stimulációs módszereket alkalmazni és előnyeiket felfedezni. Másik oka pedig az, hogy egy akut, intenzíven gyulladásos szöveten, ami már eddig is jelentős PG hatás, főleg PGF<sub>2</sub> $\alpha$  alatt állt [34], a külső PG stimulációtól valószínűleg csökkent válasz várható. Ez csupán egy hipotézis, ugyanakkor erősíti az a tény, hogy a szakirodalomban nem lelhető fel olyan kísérleti eredmény, amelyben LPS indukált gyulladást követően simaizom szövetet PGF<sub>2</sub> $\alpha$  stimuláció alá vetettek volna.

*11. 84. ábra: P4 előkezelés önmagában befolyásolta-e a vemhes uterus spontán kontrakcióját? A 85. ábra szerint a P4 önmagában szignifikánsan növelte a cervix rezisztenciát.*

A progeszteron önálló hatását valóban nem tüntettem fel, ehhez egy külön oszlopdiagrammot kellett volna betenni, hiszen az in vivo progeszteron előkezelés hatását a kontrakciókra csak a kontroll kontrakciók összehasonlításával lehet ábrázolni. Nem találtunk szignifikáns különbséget az alapköntrakciókban a kezeletlen és a kezelt csoportok között, bár a progeszteron előkezelés számértékileg csökkentette a kontrakcióhoz tartozó 5 perces AUC értéket, de statisztikailag nem volt jelentős eltérés. Elismerem, hogy ezt az információt is közölni kellett volna az értekezésben legalább egy mondat erejéig.

*12. A cervix rezisztencia és a cAMP szint közti összefüggést több kísérletben is elemezte a jelölt. Az adatok közt ellentmondás van, ami betudható a különböző kísérleti körülményeknek. Ezzel kapcsolatban kérem a jelölt véleményét.*

Azokban a vizsgálatokban, amikor a cervix rezisztencia változást összevetettük a cervix cAMP szint változásával a legtöbb esetben azt kaptuk, hogy a cAMP szint emelkedését rezisztencia csökkenés, míg csökkenését rezisztencia fokozódás kísérte. Ez teljesen egybevág a farmakológiai logikával, miszerint a cAMP emelkedése simaizom relaxációt, míg csökkenése simaizom tónus fokozódást eredményez. Az egyetlen kivétel ez alól a terbutalin-tokoferol kombináció vizsgálata volt, ahol a terbutalin és a terbutalin-progeszteron kombináció is fokozta a cervikális cAMP szintet úgy, hogy ezzel együtt nőtt a cervix rezisztencia is. A cAMP emelkedésre bekövetkező kontrakciófokozódás azonban nem a simaizomzatra, hanem a szívizomzatra jellemző [35]. A legelső, még 2005-ben, a terbutalinnal történt cervix rezisztencia vizsgálatunkban nem mértünk cAMP szintet, csak G-protein aktiválódást, aminél szokatlan csökkenést kaptunk [12]. A módszer nem volt specifikus a G<sub>s</sub>-fehérjére, hanem valamennyi G-proteint mérte, ugyanakkor ez sem magyarázhatja kielégítően a cervikális cAMP szint emelkedéssel kísért cervix rezisztencia fokozódást. A β<sub>2</sub>-adrenerg receptorok működésében a G-proteineken kívül számos más fehérje is dinamikusan szabályozza a jelátvitelt [36], így elképzelhető, hogy ennek az ellentmondásnak a feloldása is ebben rejlik. Azonban ilyen jellegű vizsgálatokat ezidáig nem végeztünk, így ez csupán egy lehetséges felvetés. Tavaly került publikálásra egy rendkívül érdekes kutatás patkány vas deferens kapcsán, mely során izolált szervi kísérletben izoprenalinnal végzett β-adrenerg stimulációt követően az intracellulárisan felszabadult cAMP extracelluláris kiáramlása fokozódott, ahol adenzinná alakult át, ami az adenzin1-receptorok izgatásával izomtónus fokozódást eredményezett [37]. Nem ismert, hogy ez a folyamat működik-e a 22 napos vemhes patkány cervixben, de ez is egy lehetséges magyarázat az ellentmondás feloldására.

*13. 89. ábra: Hogyan hat a tokoferol önmagában a KCl-indukálta-kontrakciókra vemhes uteruson? A cervix rezisztenciát szignifikánsan csökkentette vemhes uteruson mint azt a 92. ábra mutatja.*

A tokoferollal önállóan koncentráció-hatás görbét nem vettünk fel, mivel a tokoferolnak, mint antioxidánsnak a befolyását vizsgáltuk a COX-gátlók hatására 10<sup>-7</sup> M-os koncentrációban. Azt

viszont megnéztük, hogy ebben az egy koncentrációban tokoferol hogyan befolyásolja a KCl indukálta kontrakciós választ *in vitro*, és azt találtuk, hogy a 22 napos vemhes uteruszon egyértelműen fokozta a kontrakciókat. Ezzel kapcsolatosan igazoltuk, hogy a tokoferol fokozza COX2-aktivitást az uterusban, ami magyarázhatja a kontrakciót növelő effektusát [15].

*14. 92. ábra: Hogyan magyarázható, hogy a nem szelektív és szelektív COX-2 gátlókat alkalmazták koraszülés megelőzésére (ld. Bevezetés), ugyanakkor a jelen eredmények szerint diclofenac és rofecoxib csökkentik a cervix rezisztenciát.*

A COX gátlókat a klinikai tapasztalatok alapján kb. 48 órán át keresztül alkalmazzák a hatékonyságuk nem minden esetben egyértelmű, több vizsgálatban is azt találták, hogy a 48 órán belüli szülések gyakoriságát nem tudták szignifikánsan csökkenteni, ugyanakkor más vizsgálatokban kitolták a szülés idejét [38]. Korábban patkányban vizsgálták az indometacin cervix rezisztenciára gyakorolt hatását és azt találták, hogy az indometacin kezelés növelte a cervix rezisztenciát [39], ami ellentmond a mi diklofenákkal és rofecoxibbal kapott eredményeinknek. Ugyanakkor lényeges különbség, hogy egyedülálló módon, a mi vizsgálatainkban egyetlen kezelést kaptak az állatok, illetve az izolált szövetet a vemhesség végén vizsgáltuk, míg a korábbi experimentális vizsgálatokban és a klinikumban több napos indometacin kezelés után vonták le a következtetéseket és tették meg a klinikai megállapításokat. Mivel vizsgálatainkat 22 napos vemhes cervixeken végeztük, amelyek lényegében már elvesztették kollagén tartalmukat, így a cervix rezisztencia mérésénél a simaizomhatásokat mértünk, ami a COX-gátlók esetén relaxáció volt. Ha COX-gátló kezelés még kevésbé érett cervix esetén indul, akkor a mátrix metalloproteinázokat aktiváló prosztaglandinok [40] gátlása megakadályozza a kollagénbontást és ezáltal növelik a cervix rezisztenciát. A klinikai gyakorlatban ez érvényesül, ami által a COX-gátlók alkalmasak a tokolízisre.

*15. Hogyan látja egy kalcium csatorna blokkoló és progeszteron származék kombinációját a koraszülés megelőzésére? Nifedipin helyett nem lenne célszerűbb egy tartósabb hatású kalcium csatorna blokkolót alkalmazni, pl. amlodipint?*

Ezzel kapcsolatosan vannak saját kísérletes eredményeink, melyeket nem tettem bele az értekezésbe, mivel ez még szerte ágazóbbá tette volna a disszertációt. Azt találtuk, hogy izolált 22. vemhességi naptól származó uterusz szöveteken a progeszteron előkezelés csökkentette a nifedipin maximális gátló hatását, és több mint kétszeresére növelte az EC<sub>50</sub> értékét, azaz kifejezetten rontotta a hatását és a hatékonyságát is [41]. Ennek az lehet az oka, hogy progeszteron hatására az L-típusú kalcium csatornáknak egy olyan  $\alpha_{1long}$  izoformája expresszálódik, amelyik kisebb aktivitással rendelkezik az ösztrogén hatására expresszálódó  $\alpha_{1short}$  izoformához képest [42], és ez lehet felelős a kalcium csatorna gátlók relaxáló hatásának csökkenésért. Eddig egy klinikai vizsgálatban adták együtt a nifedipint és a 17 $\alpha$ -hidroxiprogeszteron kaproátot, de nem találták hatásosnak a kombinációt a koraszülés megakadályozására [43]. Ezek alapján a progeszteron és kalcium csatorna gátló kombinációja nem mutatkozik ígéretesnek. A hosszú hatású kalcium-csatorna blokkolókkal nincsenek tapasztalatok a tokolitikus terápiában, a rövid hatású nifedipin is csak néhány napig tudja



meghosszabbítani a terhességet, ráadásul a mellékhatások (tachikardia, hipotónia, ritkán pulmonáris ödéma, valamint a magzati keringés esetleges romlása) limitálják is alkalmazásának időtartamát [44]. Egy 24 vagy 36 órán keresztül ható kalcium-csatorna gátló valószínűleg ötvözhető az akut és fenntartó tokolízissal, ugyanakkor hosszabb hatása tartósabb mellékhatásokat eredményezhet, ami kedvezőtlen lehet az anya és a magzat számára is. Ezek alapján nem valószínű, hogy az akár a szájüregből is gyorsan felszívódó nifedipinnel szemben túl sok előnye lenne a hosszú hatású szerek alkalmazásának.

Még egyszer tisztelettel és hálással köszönöm Gyires Klára professzor asszonynak az értekezésem bírálatát, támogató javaslatát és lényegre mutató, éleslátó és további ötleteket adó kérdéseit. Tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Szeged, 2025. február 14.



Dr. Gáspár Róbert PhD

egyetemi tanár

## Irodalomjegyzék

- [1] W. Rath, R.J. Kuon, Progesterone - Effective for tocolysis and maintenance treatment after arrested preterm labour?, *Geburtshilfe Frauenheilkd* 79 (2019). <https://doi.org/10.1055/a-0829-3992>.
- [2] E.R. Norwitz, A.B. Caughey, Progesterone supplementation and the prevention of preterm birth, *Rev Obstet Gynecol* 4 (2011). PMID: 22102929
- [3] R. Navathe, V. Berghella, Progesterone as a tocolytic agent for preterm labor: A systematic review, *Curr Opin Obstet Gynecol* 28 (2016). <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000327>.
- [4] M. Schumacher, P. Liere, A. Ghomari, Progesterone and fetal-neonatal neuroprotection, *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 69 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.09.001>.
- [5] A.C. Vidaeff, M.A. Belfort, Critical appraisal of the efficacy, safety, and patient acceptability of hydroxyprogesterone caproate injection to reduce the risk of preterm birth, *Patient Prefer Adherence* 7 (2013). <https://doi.org/10.2147/PPA.S35612>.
- [6] T. Berg, O. Bakos, Exposure to antiandrogen during pregnancy: Case report, *Br Med J (Clin Res Ed)* 294 (1987). <https://doi.org/10.1136/bmj.294.6573.677-a>.
- [7] C. Moreau, M. Kaminski, P.Y. Ancel, J. Bouyer, B. Escande, G. Thiriez, P. Boulot, J. Fresson, C. Arnaud, D. Subtil, L. Marpeau, J.C. Rozé, F. Maillard, B. Larroque, Previous induced abortions and the risk of very preterm delivery: Results of the EPIPAGE study, *BJOG* 112 (2005). <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2004.00478.x>.
- [8] P.Y. Ancel, N. Lelong, E. Papiernik, M.J. Saurel-Cubizolles, M. Kaminski, History of induced abortion as a risk factor for preterm birth in European countries: Results of the EUROPOP survey, *Human Reprod* 19 (2004). <https://doi.org/10.1093/humrep/deh107>.
- [9] M. Geevarghese, K. Patel, A. Gulati, A.K. Ranjan, Role of adrenergic receptors in shock, *Front Physiol* 14 (2023). <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1094591>.
- [10] R. Rahman, S. Saleem, R. Khan, Mechanism of action of adrenergic drugs and recent updates, in: *How Synthetic Drugs Work: Insights into Molecular Pharmacology of Classic and New Pharmaceuticals*, 2023. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99855-0.00003-8>.
- [11] M.T. Kabir, R. Akter, Adrenergic neurotransmission, in: *Neurochemical Systems and Signaling: From Molecules to Networks*, 2023. <https://doi.org/10.1201/9780429265198-2>.
- [12] R. Gáspár, Z. Kolarovszki-Sipiczki, E. Ducza, E. Páldy, S. Benyhe, A. Borsodi, G. Falkay, Terbutaline increases the cervical resistance of the pregnant rat in vitro, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 371 (2005). <https://doi.org/10.1007/s00210-004-1010-x>.
- [13] R. Bukowski, L. MacKay, C. Fittkow, L. Shi, G.R. Saade, R.E. Garfield, Inhibition of cervical ripening by local application of cyclooxygenase 2 inhibitor, in: *Am J Obstet Gynecol*, 184 (2001). <https://doi.org/10.1067/mob.2001.115121>.
- [14] R. Bukowski, L. McKay, S.Q. Shi, G.R. Saade, R.E. Garfield, The effects of cervical application of inhibitors of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-1, and cyclooxygenase-2 on delivery in rats, in: *Am J Obstet Gynecol*, 185 (2001). <https://doi.org/10.1067/mob.2001.116723>.
- [15] A. Kothencz, J. Hajagos-Tóth, K.F. Szucs, A. Schaffer, R. Gáspár, A-tocopherol potentiates the cervical resistance decreasing effects of COX inhibitors in pregnant rats: The putative role of cyclooxygenase-2 inhibition, *J Pharmacol Exp Ther* 368 (2019). <https://doi.org/10.1124/jpet.118.251850>.
- [16] M. Fahmy, A. Abdelgayed, R. Dawood, E. Abdelaty, The role of progesterone in comparison with calcium channel blockers in the prevention of preterm birth in women with a short cervix, *Menoufia Med J* 30 (2017). <https://doi.org/10.4103/1110-2098.215447>.

- [17] M. Yoshida, N. Sagawa, H. Itoh, S. Yura, D. Korita, K. Kakui, N. Hirota, T. Sato, A. Ito, S. Fujii, Nitric oxide increases matrix metalloproteinase-1 production in human uterine cervical fibroblast cells, *Mol Hum Reprod* 7 (2001). <https://doi.org/10.1093/molehr/7.10.979>.
- [18] M. Jamil, A. Basharat, S. Ayub, Transdermal nitro-glycerine versus oral nifedipine for acute tocolysis in preterm labour: a randomised controlled trial, *J Soc Obstet Gynaecol Pak* 10(1), 26-29, (2020)
- [19] I. V. Ignatko, E.A. Shvyreva, V.A. Lebedev, A.A. Churganova, N.A. Bogacheva, V.M. Sorokina, Tactics of the management of premature deliveries: to what patients tocolysis is indicated and should help, V.F.Snegirev Arch Obstet Gynecol 5 (2018). <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2018-5-1-49-54>.
- [20] J. Snidow, H. Miller, G. Valenzuela, S. Thornton, B. Stier, L. Clayton, M. Fossler, T. Montague, K. Beach, P. Williams, A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial of retosiban, a selective oxytocin receptor antagonist, for the management of preterm labor, *Am J Obstet Gynecol* 208 (1), S155, (2013).
- [21] R. Gáspár, E. Ducza, A. Mihályi, Á. Márki, Z. Kolarovszki-Sipiczki, E. Páldy, S. Benyhe, A. Borsodi, I. Földesi, G. Falkay, Pregnancy-induced decrease in the relaxant effect of terbutaline in the late-pregnant rat myometrium: Role of G-protein activation and progesterone, *Reprod* 130 (2005). <https://doi.org/10.1530/rep.1.00490>.
- [22] R. Gáspár, I. Földesi, J. Havass, A. Márki, G. Falkay, Characterization of late-pregnant rat uterine contraction via the contractility ratio in vitro. Significance of  $\alpha$ 1-adrenoceptors, *Life Sci* 68 (2001). [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)01014-6](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)01014-6).
- [23] M.F. Alotaibi, The response of rat and human uterus to oxytocin from different gestational stages in vitro, *Gen Physiol Biophys* 36 (2017). [https://doi.org/10.4149/gpb\\_2016022](https://doi.org/10.4149/gpb_2016022).
- [24] P.H. Ratz, K.M. Berg, N.H. Urban, A.S. Miner, Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus, *Am J Physiol Cell Physiol* 288 (2005). <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00529.2004>.
- [25] M.J. Elmes, D.S-Y. Tan, Z. Cheng, D.C. Wathes, S. McMullen, The effects of a high-fat, high-cholesterol diet on markers of uterine contractility during parturition in the rat, *Reprod* 141 (2011). <https://doi.org/10.1530/REP-10-0378>
- [26] T. Yanagita, R. Yamamoto, T. Sugano, H. Kobayashi, Y. Uezono, H. Yokoo, S. Shiraiishi, S.I. Minami, A. Wada, Adrenomedullin inhibits spontaneous and bradykinin-induced but not oxytocin- or prostaglandin F(2 $\alpha$ )-induced periodic contraction of rat uterus, *Br J Pharmacol* 130 (2000). <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703500>.
- [27] K. Tanaka, M. Osaka, S. Takemori, M. Watanabe, S. Tanigaki, Y. Kobayashi, Contraction-associated proteins expression by human uterine smooth muscle cells depends on maternal serum and progranulin associated with gestational weight gain, *Endocr J* 67 (2020). <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0037>.
- [28] R. Muir, J. Ballan, B. Clifford, S. McMullen, R. Khan, A. Shmygol, S. Quenby, M. Elmes, Modelling maternal obesity: The effects of a chronic high-fat, high-cholesterol diet on uterine expression of contractile-associated proteins and ex vivo contractile activity during labour in the rat, *Clin Sci* 130 (2016). <https://doi.org/10.1042/CS20150539>.
- [29] B. Liu, G. Xu, Y. Sun, Y. Du, R. Gao, L.G. Snetelaar, M.K. Santillan, W. Bao, Association between maternal pre-pregnancy obesity and preterm birth according to maternal age and race or ethnicity: a population-based study, *Lancet Diabetes Endocrinol* 7 (2019). [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30193-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30193-7).
- [30] N.S. Carlson, T.L. Hernandez, K.J. Hurt, Parturition dysfunction in obesity: Time to target the pathobiology, *Reprod Biol Endocrin* 13 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0129-6>.

- [31] A. Klukovits, A. Márki, E. Páldy, S. Benyhe, M. Gálik, G. Falkay, R. Gáspár, Inflammatory processes enhance cAMP-mediated uterus relaxation in the pregnant rat: The role of TNF- $\alpha$ , *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 379 (2009). <https://doi.org/10.1007/s00210-008-0381-9>.
- [32] R. Gáspár, J. Hajagos-Tóth, A. Schaffer, A. Kothencz, L. Siska-Szabó, E. Ducza, A. Csányi, T. Tábi, F. Bagaméry, É. Szökő, K.F. Szűcs, S.G. Vari, High fat high sucrose diet modifies uterine contractility and cervical resistance in pregnant rats: the roles of sex hormones, adipokines and cytokines, *Life* 12 (2022). <https://doi.org/10.3390/life12060794>.
- [33] Y. Osawa, P.D. Yim, D. Xu, R.A. Panettieri, C.W. Emala, Raf-1 kinase mediates adenylyl cyclase sensitization by TNF- $\alpha$  in human airway smooth muscle cells, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 292 (2007). <https://doi.org/10.1152/ajplung.00123.2006>.
- [34] T. Okawa, H. Suzuki, K. Yaanagida, A. Sato, Y. Vedernikov, G. Saade, R. Garfield, Effect of lipopolysaccharide on uterine contractions and prostaglandin production in pregnant rats, *Am J Obstet Gynecol* 184 (2001). <https://doi.org/10.1067/mob.2001.108083>.
- [35] R.P. Xiao, H. Cheng, Y.Y. Zhou, M. Kuschel, E.G. Lakatta, Recent advances in cardiac  $\beta$ 2-adrenergic signal transduction, *Circ Res* 85 (1999). <https://doi.org/10.1161/01.RES.85.11.1092>.
- [36] J.L. Benovic, Novel  $\beta$ 2-adrenergic receptor signaling pathways, in: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2002. <https://doi.org/10.1067/mai.2002.129370>.
- [37] E.S.A. Pacini, R. de Paula Moro, R.O. Godinho, Extracellular cAMP elicits contraction of rat vas deferens: Involvement of ecto-5'-nucleotidase and adenosine A1 receptors., *Toxicol Appl Pharmacol* 491 (2024) 117070. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2024.117070>.
- [38] H.E. Reinebrant, C. Pileggi-Castro, C.L.T. Romero, R.A.N. dos Santos, S. Kumar, J.P. Souza, V. Flenady, Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015 (2015). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001992.pub3>.
- [39] L. Shi, S.Q. Shi, G.R. Saade, K. Chwalisz, R.E. Garfield, Studies of cervical ripening in pregnant rats: Effects of various treatments, *Mol Hum Reprod* 6 (2000). <https://doi.org/10.1093/molehr/6.4.382>.
- [40] K. Ravanos, T. Dagklis, S. Petousis, C. Margioulas-Siarkou, Y. Prapas, N. Prapas, Factors implicated in the initiation of human parturition in term and preterm labor: A review, *Gynecol Endocrin* 31 (2015). <https://doi.org/10.3109/09513590.2015.1076783>.
- [41] J. Hajagos-Tóth, G. Falkay, R. Gáspár, Modification of the effect of nifedipine in the pregnant rat myometrium: The influence of progesterone and terbutaline, *Life Sci* 85 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.08.008>.
- [42] G. Helguera, R. Olcese, M. Song, L. Toro, E. Stefani, Tissue-specific regulation of Ca<sup>2+</sup> channel protein expression by sex hormones, *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1569 (2002). [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(01\)00234-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(01)00234-3).
- [43] P.C. Tan, A.S.J. King, N. Vallikkannu, S.Z. Omar, Single dose 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate in preterm labor: A randomized trial, *Arch Gynecol Obstet* 285 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00404-011-2026-3>.
- [44] A.H. Nassar, J. Aoun, I.M. Usta, Calcium channel blockers for the management of preterm birth: A review, *Am J Perinatol* 28 (2011). <https://doi.org/10.1055/s-0030-1262512>.